

**Zur Pharmakologie
des acetylglutaminsauren Calciums**

Karl Muggenthaler

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. K. Z i p f

Zur Pharmakologie des acetylglutaminsäuren Calciums



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Karl Muggenthaler
aus
Schwarzach bei Bogen
München 1957

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. H. L i e b m a n n,

Referent: Professor Dr. K. Z i p f

Tag der Promotion: 24. Juli 1957

Meinen Eltern und meiner Braut

in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis:

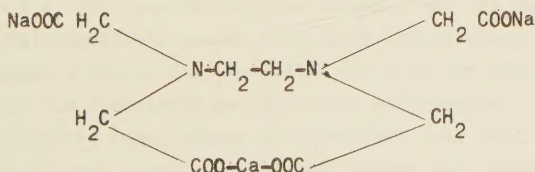
	Seite:
I. Einleitung	1
II. Zur pharmakologischen Calciumwirkung (Literatur)	3
III. Eigene experimentelle Untersuchungen	11
1. Lokale Wirkung von acetylglutaminsaurem Calcium	11
2. Entzündungs- und exsudationshemmende Wirkung von acetylglutaminsaurem Calcium	13
3. Einfluß von acetylglutaminsaurem Calcium auf die Blutgerinnung	17
4. Wirkung von acetylglutaminsaurem Calcium am isolierten Froschherzen	19
5. Beeinflussung der Magnesiumnarkose durch acetylglutaminsaures Calcium	21
6. Wirkung von Calciumacetylglutamat auf den Blut- druck der Katze	24
IV. Erörterung der experimentellen Ergebnisse	27
V. Zusammenfassung	29
VI. Literaturverzeichnis	30
VII. Lebenslauf	33

I. Einleitung.

Calcium ist von lebenswichtiger Bedeutung für alle Funktionen tierischer Zellen und Gewebe. Calciumionen sind unentbehrlich für die physiologische Reaktion des cerebrospinalen und vegetativen Nervensystems, für Tonus und Kontraktion der quergestreiften und glatten Muskeln, für die secretorischen Funktionen, für die normale Herzaktion und für die Blutgerinnung. Ausserdem sind Calciumverbindungen wesentliche Bestandteile der Knochenstruktur.

Physiologisch und pharmakologisch wirksam sind nur die Calciumionen. Ihnen verdankt das Calcium seine hervorragende therapeutische Bedeutung in Klinik und Praxis.

Der optimalen Sofortwirkung stark ionisierter Calciumsalze stehen häufig unangenehme toxische Nebenwirkungen entgegen. Diese äussern sich in lokaler Reizwirkung auf Schleimhäute, Gefäßwände und andere Gewebe, in starker Erweiterung der peripheren Gefässe mit kollapsartiger Blutdrucksenkung und in Schädigung des Herzmuskels. Pharmakologische Wirkung und toxische Nebenwirkungen von Calcium-Salzlösungen sind abhängig von ihrem Dissoziationsgrad. Stark ionisierte Calciumsalze, wie z.B. Calciumchlorid, sind stark wirksam aber auch sehr toxisch. Nicht ionisierte Calciumsalze, wie z.B. das Calciumdinatriumäthylendiamintetraacetat (CaNa_2Y), sind wegen der festen komplexen Bindung des Calciums pharmakologisch praktisch unwirksam und damit auch wenig toxisch.



Für die therapeutische Verwendung sind deshalb besonders Calciumverbindungen geeignet, die in wässriger Lösung eine mittlere Dissoziation oder lockere Komplexbildung des Calciums zeigen. Die freien, aber mengenmäßig wenig toxischen Calciumionen gewährleisten hierbei eine sichere Sofortwirkung, die unterhalten wird durch fortschreitende Spaltung des nicht ionisierten oder labil komplex gebundenen Calciums.

Calciumsalze von Säuren, welche im Organismus abgebaut werden, und zu CO_2 und H_2O verbrennen, werden mit Recht bevorzugt. Bei ihnen besteht nicht, wie z.B. bei Calciumchlorid, die Gefahr einer Acidosis, da das Säureanion ohne Bindung körpereigener Kationen völlig verschwindet. Wichtige Eigenschaften eines Calciumsalzes für Therapeutische Zwecke sollten deshalb sein:

- a) Leichte Wasserlöslichkeit mit neutraler Reaktion.
- b) Vorliegen des Calciums in wässriger Lösung zum Hauptteil in nicht ionierter bzw. labil komplex gebundener und nur zu einem kleinen Teil in ionisierter Form.
- c) Rasches Verschwinden der salzbildenden Säure aus dem Organismus ohne Verlust basischer Valenzen.

Diesen Forderungen entspricht das Calciumsalz der 1-(+)-Acetylglutaminsäure, dessen Herstellung seit einiger Zeit möglich ist (44). Calcium-acetylglutamat ist seit einigen Jahren unter dem Namen Solcalcium (R) in die Therapie eingeführt. Über seine therapeutisch wichtigsten pharmakologischen Eigenschaften wird auf Grund eigener experimenteller Untersuchungen hier berichtet.

*) 1-(+)-acetylglutaminsaures Calcium ist unter dem Namen "Solcalcium" (WZ) im Handel.

Hersteller: Sagitta-Werk, Zweigniederlassung der Hans Fasching Erben KG, München 15, Pettenkoferstraße 22.

II. Zur pharmakologischen Calcium-Wirkung (Literatur)

Gewisse lösliche Calciumsalze haben einen unangenehmen Geschmack. Die orale Einnahme therapeutischer Dosen verursacht häufig durch lokale Schleimhautreizung Beschwerden. Die lokale Reizwirkung ist abhängig vom Dissoziationsgrad der Calciumsalze. Deshalb wirkt Calciumchlorid stärker lokal reizend als das weniger ionisierte Calciumlaktat. Das noch weniger dissoziierte Calciumgluconat und Calciumlactobionat sind praktisch geschmacksfrei und besitzen keine lokale Reizwirkung.

Subcutan oder intramuskulär injiziert, verursacht das Chlorid ebenso wie das Laktat, schon in geringen Konzentrationen Gewebsreizung bis zu Gewebnekrosen. Bei intravenöser Injektion konzentrierter Lösungen von Calciumchlorid darf die Lösung nicht paravenös injiziert werden, da sonst tiefe scharf begrenzte Nekrosen in der Umgebung der Venen entstehen. Im Gegensatz hierzu werden Calciumgluconatlösungen bei sub- und intrakutaner Injektion gut vertragen (M ø l l e r (26)).

Entzündungs- und exsudationshemmende Wirkungen des Calciums.

Der hemmende Einfluß des Calciums bei verschiedenen Formen von exsudativen Prozessen (Urticaria, Oedeme, Serumexantheme) wurde zuerst von W r i g h t klinisch festgestellt. Er bezog diese Wirkung irrtümlicherweise auf die Förderung der Blutgerinnung durch Calcium (42).

Die experimentelle Basis für den Nachweis der exsudations- und entzündungshemmenden Wirkung der Calciumionen wurde von C h i a r i und J a n u s c h k e (5) geschaffen, die zeigten, daß die subcutane Verabreichung von Calciumchlorid sowohl eine durch Instillation von Senföl in den Bindehautsack erzeugte Conjunctivitis als auch die nach intrapleuraler Applikation von Jodnatrium und Thiosamin auftretenden Pleuraergüsse weitgehend verhindern kann. Dieser Calciumeffekt trat auch dann ein, wenn das Blut durch Hirudin ungerinnbar gemacht worden war. Damit war erwiesen, daß die Calciumwirkung nicht auf einer Förderung der Blutgerinnung beruht. L e o (20) bestätigte die prophylaktische Wirkung von Calciumchlorid bei der Senfölconjunctivitis des Kaninchens; G o l d (10) bei der durch CuSO_4 an Katzen erzeugten Pleuritis.

Besondere Erwähnung verdient der von R o t h l i n und S c h a l c h (31) erbrachte Beweis, daß die entzündungs- und exsudationshemmende Cal-

ciumwirkung nicht durch eine Blutdrucksenkung, d.h., durch einen verminderten Filtrationsdruck erklärt werden kann, wie T a i n t e r und D e v e n t e r (39) vermutet hatten. Blutdruckmessungen an nicht narotisierten Kaninchen ergaben regelmässig eine Blutdruckerhöhung nach Calcium; trotzdem war die Exsudatmenge der mit Calcium vorbehandelten Tiere rund viermal kleiner als bei den unbehandelten Kontrolltieren (R o t h l i n und S c h a l c h 31).

Die Folgeerscheinungen des chemischen Lungenödems, charakterisiert durch Emphysem, alveoläres und interstitielles Ödem, entzündliche und eitrige Infiltration, chronische Bronchitis u.a. bieten wegen ihrer Ähnlichkeit mit pathologischen Lungenveränderungen anderer Ätiologie eine gute Möglichkeit, die exsudations- und entzündungshemmende Calciumwirkung zu prüfen. Bei tierexperimentellen Untersuchungen über den Entstehungsmechanismus des Lungenödems nach Phosgenvergiftung fand R o t h l i n (30), daß die rechtzeitig eingeleitete und konsequent durchgeführte parenterale Calciumbehandlung imstande ist, sowohl die lokalen Lungenveränderungen in relativ kurzer Zeit auszuheilen, als auch die allgemeine Reaktionslage zu heben. Die Wirkung der Calciumionen bezieht sich nicht nur auf die Wiederherstellung der physiologischen Gewebepерmeabilität und auf die Entzündungshemmung, sondern fördert auch die regenerativen Vorgänge und behebt die entzündliche allergische Reaktionslage.

Der entzündungs- und exsudationshemmende Effekt der Calciumionen dürfte in erster Linie auf ihre permeabilitätsherabsetzende Wirkung zurückzuführen sein, wie zuerst von M e y e r (24) angenommen wurde. Daneben scheint von Wichtigkeit zu sein, daß Calciumionen durch einen besonders hohen Hydratationsgrad ausgezeichnet sind, So bindet beispielsweise Kalium etwa 4 Moleküle, Natrium etwa 8 Moleküle, Lithium etwa 15 Moleküle und Calcium etwa 22 Moleküle Wasser. Unter physiologischen Verhältnissen ist der Flüssigkeitsgehalt der Gewebe durch das Verhältnis von Calcium⁺⁺ zu Kalium⁺ und Natrium⁺ bestimmt (S t a n g l 36). Für eine Erklärung der entzündungs- und exsudationshemmenden Wirkung der Calciumionen dürfte ihr permeabilitätshemmender und kapillarabdichtender Effekt allein kaum genügen. Sicherlich spielen auch noch andere Faktoren dabei eine Rolle. So verhindern z.B. Calciumionen bei Entzündungsprozessen das Überwiegen der antagonistischen Kaliumionen, die - neben OH-Ionen - bei der Schmerz-entstehung eine Rolle spielen. Andererseits ist anzunehmen, daß an dem Sekretionsmechanismus auch nervöse, parasympatische Vorgänge beteiligt

sind, die durch Calciumionen beeinflusst werden. So ist bekannt, daß bei Rhinitis vasomotorica sowie beim Asthma bronchiale eine gesteigerte Funktion des Vagus vorliegt; die vagotonen Zustände werden aber durch Calciumionen gedämpft bzw. gehemmt.

Auf die antiphlogistische Wirkung von ionisierten Calciumsalzen weist auch ihr hemmender Einfluß auf das durch Injektion von Hühnereiweiß erzeugte Ödem der Rattenpfote hin (S e l y e 32).

Wirkung des Calciums auf die Blutgerinnung.

Die Gerinnung des Blutes ist ein fermentchemischer Vorgang, der in drei Phasen verläuft. In der ersten Phase entsteht das Gerinnungsferment Thrombin, in der zweiten Phase kommt es durch die Einwirkung des Gerinnungsfermentes Thrombin auf das Fibrinogen zur Bildung des Fibrins, während in der dritten Phase die Retraktion des Blutkuchens stattfindet.

Für die Thrombinbildung aus Prothrombin und Thrombokinase ist die Mitwirkung von Calciumionen unerläßlich, wie A r t h u s und P a g é s (1) darlegten. Diese Ansicht wird von D y c k e r h o f f (7) im wesentlichen durch folgende Versuchsergebnisse erhärtet:

- 1.) Alle kalkfällenden oder entionisierenden Anionen verhindern die Blutgerinnung schon in kleiner Konzentration.
- 2.) Die Wiederentfernung dieser Anionen aus dem Plasma löst keine Gerinnung aus.
- 3.) Kalkentziehung durch Dialyse oder Ultrafiltration verhindert ebenfalls die Blutgerinnung.
- 4.) Wird durch Calcium-Entzug die Plasmagerinnung verhindert, wie dies durch Citrate, Oxalate, Fluoride geschieht, so kann durch nachträgliche Zugabe von Calciumchlorid das Plasma wieder zur Gerinnung gebracht werden.
- 5.) Komplexgebundenes Calcium zeigt keinen gerinnungsauslösenden Effekt.

Heute steht fest, daß die Gerinnung des Blutes nur in Gegenwart von ionisiertem Calcium erfolgen kann. Nach W e i t n a u e r und W ö h l i s c h (41) ist die Anwesenheit des Calciums aber nur für die Bildung des Thrombins erforderlich; ist einmal wirksames Thrombin entstan-

den, so erfolgt die Einwirkung auf das Fibrinogen auch ohne Gegenwart von Calcium.

F i s c h e r (8) ist der Ansicht, daß das Prothrombin zu den Globulinen gehört und daß das Thrombin kein reiner Eiweißkörper, sondern ein calciumhaltiges Lipoproteid ist, dessen prosthetische Gruppe ein Lipoid, vermutlich Kephalin, ist (= Thrombokinese). Bei der Aktivierung des unwirksamen Prothrombins zu wirksamem Thrombin wird der Eiweißbestandteil (Prothrombin) mit dem Lipoidbestandteil (Thrombokinese) unter Eintritt von Calcium gekoppelt zu Thrombin.

Nach H a m m a r s t e n und W ö h l i s c h (12) ist eine katalytische Wirkung auf die Prothrombinaktivierung am wahrscheinlichsten. H o w e l l behauptete, die Kinase befreie das Prothrombin von der Hemmung des Antiprothrombins. Er nahm zuerst eine unmittelbare Wirkung des Calciums auf das Prothrombin an. Im Gegensatz hierzu stellte K a s t l (17) aus Serum, das durch Oxalat calciumionenfrei gemacht worden war, im Laboratorium von W ö h l i s c h hochwirksame Thrombinpräparate nach S c h m i d t dar, die calciumfreie Fibrinogenlösungen zur Gerinnung brachten. Die alte Frage, ob das Calcium katalytisch oder stöchiometrisch wirkt, ist nach Q u i c k (28) heute eindeutig entschieden. Calcium soll danach, ähnlich wie die Thrombokinese, stöchiometrisch, nicht enzymatisch katalytisch in die Aktivierung des Prothrombins eingreifen.

Eine Möglichkeit zur Prüfung des Verhaltens der Blutgerinnung unter Einwirkung von Calciumsalzen bietet die Messung der Blutgerinnungszeit nach D y c k e r h o f f (7).

Die Wirkung des Calciums auf das isolierte Herz.

Die allgemeine biologische Bedeutung der Calciumionen geht auch daraus hervor, daß die Ringerlösung, welche bekanntlich in der experimentellen und klinischen Medizin als eine Flüssigkeit mit physiologischer Zusammensetzung ausgedehnte Verwendung findet, eine bestimmte Calciumionenkonzentration enthalten muß, wenn die muskuläre und nervöse Erregbarkeit der Organe nicht gestört werden soll. Dies demonstrierte R i n g e r am isolierten Froschherzen, dem als Nährmedium eine Lösung von Kochsalz, Kaliumchlorid, Calciumchlorid und Natriumbikarbonat diente. Wenn der notwendige Calciumgehalt dieser Nährlösung herabgesetzt wird, so treten charakteri-

stische Veränderungen der Herztätigkeit auf. Die systolische Kraft wird vermindert und die Herzschlagfolge verlangsamt; es treten unregelmässige Kontraktionen auf. In völlig calciumfreien Nährlösungen tritt völliger Herzstillstand ein, der durch Zusatz von Calcium in ionisierter Form wieder aufgehoben werden kann. Schon R i n g e r hat darauf hingewiesen, daß Natrium, Kalium und Calcium eine besondere Bedeutung für die Herzmuskeltätigkeit besitzen. Er beobachtete, daß kurze Zeit nach Durchspülung des isolierten Herzens mit einer 0,6%igen NaCl-Lösung Herzstillstand in Diastole eintritt. Nach Zugabe von Calciumionen traten die Kontraktionen innerhalb kurzer Zeit wieder auf; bald erfolgte jedoch wiederum Herzstillstand, dieses Mal in Systole. Durch Zufuhr von Kalium kam es schließlich zu normaler Herzaktion.

Die Wirkung der Calciumionen auf das Säugetierherz ist nach L a n g e n d o r f f und H u e c k (19) und nach S t a r k e n s t e i n (37) ähnlich wie am Herzen der Kaltblüter. Sie führen zu Zunahme der Kontraktionsgrösse, die sich durch kräftige Systolen kundtut, und zu einer Steigerung des Muskeltonus.

Eine antagonistische Wirkung gegenüber Calciumionen üben Kaliumionen aus, indem sie die diastolische Erschlaffung begünstigen und die Systole abschwächen. Wird der Calciumgehalt erheblich erhöht, so bleibt schließlich das Herz in Systole stehen. Durch Auswaschen mit Ringerlösung kann es wieder zum Schlagen gebracht werden. Calciumionen erzeugen am Herzen ferner nicht nur eine Steigerung der Empfindlichkeit für Adrenalin (B i l l i g h e i m e r 3), sondern auch für Digitalisglykoside (F r ö h n e r 9).

Die Gegenwart des Calciums ist demnach für die rhythmische und autonome Funktion des Herzens unerläßlich, jedoch nur die Gegenwart ionisierten Calciums. Das gebundene Calcium ist physiologisch unwirksam.

Die Bedeutung des Calciumions ist am isolierten Froschherzen besonders eindrucksvoll demonstriert worden (S t r a u b 40).

Die Wirkung des Calciums auf die Magnesiumnarkose.

M e l t z e r und A u e r (23), die als erste den Magnesium-Calcium-Antagonismus beschrieben haben, nahmen auf Grund ihrer Beobachtungen an,

daß die sogenannte "Magnesiumnarkose" zentral bedingt sei. Lange Zeit sind darüber die Meinungen geteilt gewesen, ob die Magnesiumwirkung nur eine periphere oder eine zentrale sei. S t r a u b und einige französische Autoren (38) hielten sie für eine curareähnliche, also rein periphere, M a r k w a l d e r und M a n s f e l d (22) dagegen mit M e l t z e r und A u e r (23) für eine zentrale Wirkung. Auch G o l l w i t z e r - M e i e r (11) stimmte letzter Ansicht bei. C l o e t t a (6) lehnte trotz der ausführlichen Veröffentlichungen M e l t z e r s über die "Magnesiumnarkose" beim Tier und erster Berichte über die erfolgreiche Behandlung des Tetanus mit parenteral appliziertem Mg-Salzlösungen das Magnesium als ein "Curare redivivum" ab. Er scheint unter dem Eindruck der am Kaltblüter gemachten Beobachtungen B i n e t s (4) gestanden zu haben, der die Curarewirkung des Magnesiums nachgewiesen hatte. Tatsächlich bewirken sehr grosse Dosen eine curareartige Lähmung der motorischen Nervenendigungen. Beim Frosch steht, wie erwähnt, die Curarewirkung sogar im Vordergrunde, während sie beim Warmblüter erst nach dem Respirationsstillstand einsetzt und deshalb nur bei Anwendung künstlicher Atmung beobachtet werden kann (H i l z 14).

Nach intravenöser Injektion genügender Mengen von $MgCl_2$ bzw. $MgSO_4$ verfallen Versuchstiere in einen schlafartigen Zustand. Eine leichtere Narkose tritt bereits bei einer Serum-Magnesiumkonzentration von 9-10 mg% ein, während es bei 15-18 mg% zu tiefer reflexloser Narkose kommt; bei ca. 20 mg% tritt Atemlähmung ein (M ø l l e r 25).

Die Magnesiumnarkose kann durch Calciumionen unterbrochen werden. Auf Grund von Versuchen an Kaninchen und Katzen nahm Y a m a w a k i (43) an, daß die Weckwirkung der Calciumsalze bei Magnesiumschlaf auf einer Erregung des Corpus striatum beruht. S c h ö n und K ö p p e n (33) stellten daraufhin mit Kaninchen Versuche über den Calcium-Magnesium Antagonismus am Zentralnervensystem an. Sie beobachteten bei subcutaner Injektion von $MgSO_4$ eine allgemeine Lähmung, wenn die Dosis 1,0 g der Salze pro kg Körpergewicht betrug. Diese Lähmung konnte durch intravenöse $CaCl_2$ -Injektionen aufgehoben werden, wozu ungefähr die Hälfte $CaCl_2$ pro kg Körpergewicht benötigt wird. Wird die Magnesium-Dosis grösser genommen, z.B. 1,5 g $MgSO_4$ pro kg, so ist nach K ö p p e n (18) eine intravenöse $CaCl_2$ -Injektion nicht mehr im Stande, das Tier zu retten.

M e l t z e r gibt an, daß bei einem Kaninchen nach Injektion von 7 ccm einer 25%igen Lösung von $MgSO_4$ pro kg Körpergewicht nach 15-30 Minuten

völlige Lähmung, nur noch oberflächliche Atmung und Verschwinden des Lidreflexes eintreten. Durch Verabreichung von 5-10 ccm einer 5%igen CaCl_2 -Lösung gelingt es, das Tier innerhalb einer Minute wieder aufzuwecken.² Bei all diesen Versuchen wurde festgestellt, daß die CaCl_2 -Injektion fast augenblicklich die drohende Atemlähmung und vorübergehend auch die motorische Lähmung beseitigte. Nach kurzer Zeit stellten sich jedoch die Lähmungserscheinungen erneut ein. Dies erklärt sich am zwanglosesten aus der fort-dauernden Resorption von Magnesiumsalzen aus dem subcutanen Depot und dem raschen Verschwinden der intravenös zugeführten Calciumionen aus dem Blute.

Der Mg-Ca Antagonismus macht begreiflich, daß man die Mg-Narkose durch Einspritzen von Ca-entionisierenden Mitteln (Oxalat, Phosphat) vertiefen kann. S t a r k e n s t e i n (35) hat gezeigt, daß die durch subcutane Injektion von 7 ccm 25%ige MgSO_4 -Lösung pro kg Kaninchen innerhalb 15 Minuten erzielbare Narkose durch Verabreichung von Oxalat oder Phosphat vertieft werden kann.

Wirkung des Calciums auf Blutdruck und Kreislauf.

Die tierexperimentellen Untersuchungen über die Wirkungen des Calciums auf den Kreislauf, insbesondere auf den Blutdruck, sind zwar zahlreich, in ihren Ergebnissen jedoch wenig übereinstimmend. Es finden sich praktisch alle Variationen von Blutdruckschwankungen ohne gesetzmässige Orientierung. Denn wenn sich auch der quantitative oder qualitative Erfolg von der angewandten Dosierung mehr oder weniger abhängig erweist, indem schwache Dosen häufiger Blutdrucksteigerung, starke Dosen Pulsverlangsamung mit synchron verlaufender Blutdrucksenkung bewirken, so bestehen doch auffallend grosse Diskrepanzen bei den verschiedenen Autoren. (Zusammenstellung der Ergebnisse bei R o t h l i n und S c h a l c h 31).

Einheitlicher erscheinen die Resultate von S c h r e t z e n m a y r (34), welcher bei unverändertem oder leicht erhöhtem Blutdruck eine primäre Gefäßerweiterung mit anschließender Gefäßverengung fand. Besonders auffallende Unterschiede finden sich bei T a i n t e r und van D e v e n t e r (40). Trotz gleicher Versuchsbedingungen (Katzen und Kaninchen in Urethan-Narkose, subcutane Ca-Verabreichung) beobachteten sie ebenso häufig Steigerung wie Senkung des Blutdruckes.

Bei dieser unklaren Sachlage im Tierversuch hielten es R o t h l i n und S c h a l c h für angezeigt, die Frage der Calcium-Wirkung auf den Blutdruck einer eingehenden experimentellen Prüfung zu unterziehen. Hierbei fanden sie an Kaninchen und Katzen, daß die einmalige subcutane, intravenöse und kombinierte Injektion von Calcium regelmässig und ausschließlich eine Blutdruckerhöhung bewirkt.

Der eindeutige und regelmässige Befund der Blutdruckerhöhung durch subcutane und intravenöse Calcium-Injektion bei Kaninchen und Katzen deckt sich mit den klinischen Ergebnissen beim Menschen. Fast alle Autoren fanden Pulsverlangsamung mit mehr oder weniger ausgesprochener Blutdrucksteigerung (R o t h l i n und S c h a l c h 31).

Mit dem Nachweis der blutdrucksteigernden Wirkung ist natürlich nur eine Komponente der vielseitigen hämodynamischen Wirkungsweise des Calciums erfaßt. In der Literatur finden sich Hinweise darauf, daß die Gefäße erweitert werden, (S c h r e t z e n m a y r 34), wozu auch die von R o t h l i n und S c h a l c h (31) regelmässig beobachtete sehr ausgesprochene aktive Hyperämie am Kaninchenohr gehört. Das Schlagvolumen wird nach R o t h b e r g e r und W i n t e r b e r g (29) und B i l l i g h e i m e r (3) durch Calciumionen erhöht. M a n c k e (21) und H o c h r e i n (15) konnten in vivo und vitro eine Erweiterung der Coronargefäße nachweisen.

III. Eigene experimentelle Untersuchungen.

Unsere experimentellen Untersuchungen mit acetylglutaminsaurem Calcium betrafen:

- a) die lokale Verträglichkeit und Gewebefreundlichkeit bei subcutaner und intracutaner Injektion.
- b) den antiphlogischen Einfluß auf das Eiweißödem der Rattenpfote,
- c) die Wirkung auf die Blutgerinnung,
- d) die Wirkung auf das isolierte Froschherz,
- e) den Antagonismus gegen die Magnesiumnarkose, und
- f) den Einfluß auf den arteriellen Blutdruck der Katze.

Zum Vergleich wurden herangezogen Calciumchlorid (starke Dissoziation), Calciumgluconat (mäßig starke Dissoziation) und Calciumdinatriumäthylen-diamintetraacetat (CaNa_2Y) (fest komplex gebundenes Calcium).

1.) Lokale Wirkung von acetylglutaminsaurem Calcium.

Starke Konzentrationen von Calciumionen wirken bei lokaler parenteraler Applikation geweschädigend. Durch sub- und intracutane Verabreichung von Calciumacetylglutamat am Kaninchenohr und unter die Rückenhaut dieses Tieres wird geprüft, ob und in welchem Ausmaß vorübergehende oder anhaltende Gewebseffektionen ausgelöst werden.

Methodik.

Die Versuche wurden an weiblichen und männlichen Kaninchen durchgeführt. Für die intracutane Injektion am Kaninchenohr wurden äquimolare Lösungen, und zwar 0,1 ccm einer 11%igen Lösung von Calciumacetylglutamat (= 1,8 mg Ca), 0,1 ccm einer 5%igen Calciumchloridlösung (= 1,8 mg Ca) und 0,1 ccm einer 20%igen Calciumgluconatlösung (= 1,8 mg Ca) appliziert.

Zur Prüfung der lokalen Verträglichkeit der genannten Ca-Salze wurden 20 ccm einer 5,5%igen Calciumacetylglutamat- (= 180 mg Ca), 20 ccm einer 10%igen Calciumgluconat- (= 180 mg Ca) und 20 ccm einer 2,5%igen Calciumchloridlösung (= 180 mg Ca) unter die enthaarte Rückenhaut verschiedener Kaninchen injiziert.

Ergebnisse:

0,1 ccm 11%ige Lösung von Calciumacetylglutamat (= 1,8 mg Ca) ergaben bei intracutaner Applikation am Kaninchenohr nach dem Verschwinden der Quaddel eine leichte Hyperämie, nach 24 Stunden eine hyperämische Zone, nach 48 Stunden noch leichte Hyperämie und nach 72 Stunden normalen Befund.

Die in gleicher Weise durchgeführte Applikation von 0,1 ccm 5%ige Calciumchloridlösung (= 1,8 mg Ca) bewirkte nach der Injektion einen hyperämischen Hof mit Ödem, nach 24 Stunden zeigte sich starke Hyperämie und eine umschriebene Schwellung. Nach 48 Stunden bildete sich eine starke abgegrenzte Hyperämiezone mit Hämorrhagien.

Nach 20 Tagen bildete sich ein nekrotischer Herd, der scharf gegen die Umgebung abgegrenzt war. Nach 31 Tagen lag eine Narbe mit lochartigem Substanzverlust vor.

Nach intracutaner Injektion von 0,1 ccm 20%ige Calciumglukonatlösung (= 1,8 mg Ca) am Kaninchenohr zeigte sich nach Resorption der Quaddel eine leichte Hyperämie, nach 24 Stunden war der Befund gleich und nach 48 Stunden lagen normale Verhältnisse vor.

Subcutane Verabreichung von 20 ccm 5,5%ige Lösung von Calciumacetylglutamat (= 180 mg Ca) unter die Rückenhaut eines Kaninchens rief nach 8 Stunden post injectionem eine Verdickung im Bereich der Injektionsstelle hervor. Nach 24 Stunden zeigte sich noch eine leichte Verdickung. Nach 48 Stunden und 15 Tagen war der Befund normal.

20 ccm 10%ige Calciumglukonatlösung (= 180 mg Ca) bewirkten nach 8 Stunden bei gleicher Applikation eine Verdickung im Bereich der Injektionsquaddel. Nach 24 Stunden war der Befund normal, ebenso nach 48 Stunden und nach 15 Tagen.

20 ccm 2,5%ige Calciumchloridlösung (= 180 mg Ca) lösten 8 Stunden nach der Injektion eine Verdickung im Bereich der Injektionsstelle aus. Nach 24 Stunden sah man Schwellung und Infiltratbildung. Nach 48 Stunden post injectionem trat ein hartes Infiltrat, nach 15 Tagen eine starke umschriebene Verhärtung auf, Die Haut war mit dem Unterhautzellgewebe verwachsen, die Hautoberfläche ohne Befund.

2.) Entzündungs- und exsudationshemmende Wirkung von acetylglutaminsaurem Calcium.

An der Rattenpfote wurde durch Injektion von Hühnereiweiß ein Ödem erzeugt und dessen Beeinflußbarkeit durch Calciumacetylglutamat, Calciumchlorid und Calciumglukonat untersucht.

Methodik.

Am geeignetsten zur Messung der Pfotenschwellung erwies sich die plethysmometrische Methode nach H i l l e b r e c h t (13), wobei das ermittelte Gesamtvolumen der normalen und das der später entzündlich geschwellenen Pfote miteinander in Vergleich gesetzt werden.

Zur Erzeugung des Ödems wurde 200 ± 50 g schweren Ratten 0,1 ccm einer 15% igen Lösung von Hühnereiweiß in physiologischer Kochsalzlösung in die Plantarseite der rechten Hinterextremität injiziert. Im Anschluß an die Injektion wurde bei jeder Ratte das Volumen der Pfote 10 mal gemessen und das arithmetische Mittel der Messungen berechnet (Ausgangsvolumen). In gleicher Weise wurde das Pfotenvolumen 30', 60', 90' und 120' später bestimmt.

Zur Gewährleistung exakter Messungen bekamen die Tiere eine oberflächliche Nembutal-Narkose, die sich über die ganze Versuchsdauer erstreckte (2 mg Nembutal/100 g Ratte in 2%iger Lösung).

Die zu prüfenden Calciumsalze wurden in allen Fällen 15 Minuten vor der Eiweißinjektion intraperitoneal injiziert.

Die Dosis war 1,5 ccm einer 5%igen Calcium gluconicum-Lösung pro 100 g Ratte äquivalent.

Auf diese Weise wurden folgende Tiere behandelt:

Versuchsgruppe I	10 Normaltiere - Hühnereiweiß
Versuchsgruppe II	10 Tiere mit 1,5 ccm pro 100 g Ratte einer 1,3%igen <u>Calciumchloridlösung</u> .
Versuchsgruppe III	10 Tiere mit 1,5 ccm pro 100 g Ratte einer 2,62%-igen Lösung von <u>acetylglutaminsaurem Calcium</u>

- Versuchsgruppe IV 10 Tiere mit 1,5 ccm pro 100 g Ratte einer
5,0%igen Lösung von Calciumgluconicum
- Versuchsgruppe V 10 Tiere mit 1,5 ccm pro 100 g Ratte einer
6,2%igen Lösung von $\text{Na}_2\text{-Ca-}\alpha\text{-}\text{Äthylendiamintetra-}$
acetat ($\text{CaNa}_2\text{-Y}$)

Ergebnisse:

Die Versuche führten zu nachstehenden Ergebnissen:

Versuchsgruppe I - Kontrolltiere

Pfotenvolumina post injectionem (ccm)

Ausgangsvolumen	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.
1) 2,0	4,0	4,1	4,2	4,1
2) 1,8	4,1	4,1	4,1	4,1
3) 2,0	4,1	4,2	4,2	4,1
4) 1,9	4,0	4,0	4,0	4,1
5) 1,9	3,9	4,0	4,1	4,0
6) 2,0	3,9	4,0	4,1	4,1
7) 2,0	4,0	4,1	4,1	4,3
8) 2,1	4,1	4,1	4,2	4,2
9) 2,0	4,0	4,0	4,1	4,0
10) 2,0	4,0	4,0	4,0	4,3

Arithmetischer Mittelwert:

1,97	4,01	4,06	4,11	4,13
Ödemzunahme bezogen auf				
Ausgangsvolumen	103,5%	106,1%	108,6%	109,1%

Versuchsgruppe II - Calciumchlorid

Pfotenvolumina post injectionem (ccm)

Ausgangsvolumen(ccm)	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.
11)	2,2	3,2	2,9	2,8
12)	2,0	3,0	2,8	2,7
13)	2,0	3,0	2,9	2,9
14)	2,0	3,1	2,9	2,8
15)	2,1	3,0	2,8	2,8
16)	1,9	3,0	3,0	2,9
17)	1,9	3,1	3,1	3,0
18)	2,0	3,2	3,1	3,0
19)	2,1	3,1	2,8	2,8
20)	2,0	3,1	2,9	2,8

Arithmetischer Mittelwert:

2,02 3,08 2,92 2,85 2,77

Ödemzunahme bezogen auf

Ausgangsvolumen 52,5% 44,5% 41,1% 37,1%

Versuchsgruppe III - Acetylglutaminsaures Calcium

Pfotenvolumen post injectionem (ccm)

Ausgangsvolumen(ccm)	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.
21)	2,0	3,3	3,3	3,1
22)	1,9	3,2	3,3	3,2
23)	1,9	3,3	3,2	3,2
24)	2,0	3,3	3,2	3,1
25)	1,8	3,1	3,2	3,1
26)	2,0	3,2	3,1	3,1
27)	2,1	3,3	3,2	3,2
28)	2,2	3,4	3,4	3,3
29)	2,0	3,3	3,2	3,1
30)	2,0	3,2	3,2	3,2

Arithmetischer Mittelwert:

2,00 3,26 3,23 3,16 3,07

Ödemzunahme: bezogen auf

Ausgangsvolumen 63% 61% 58% 53,3%

Versuchsgruppe IV - Calciumgluconat

		Pfotenvolumina post injectionem (ccm)			
Ausgangsvolumen(ccm)		30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.
31)	1,9	3,6	3,7	3,6	3,5
32)	2,1	3,6	3,6	3,7	3,6
33)	2,0	3,5	3,6	3,6	3,5
34)	2,1	3,6	3,7	3,6	3,6
35)	2,1	3,6	3,6	3,7	3,7
36)	2,0	3,7	3,7	3,4	3,5
37)	1,9	3,5	3,6	3,6	3,7
38)	1,9	3,4	3,5	3,5	3,4
39)	1,9	3,6	3,6	3,4	3,4
40)	2,0	3,6	3,7	3,4	3,4
<u>Arithmetischer Mittelwert:</u>					
	1,99	3,57	3,63	3,55	3,53
Ödemzunahme bezogen auf					
Ausgangsvolumen:		79,4%	82,4%	78,4%	77,4%

Versuchsgruppe V - CaNa₂-Y

		Pfotenvolumina post injectionem (ccm)			
Ausgangsvolumen		30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.
41)	2,1	3,9	3,9	4,0	3,9
42)	2,0	4,0	4,0	4,1	4,0
43)	2,0	4,0	4,1	4,0	4,0
44)	1,9	3,9	4,0	3,9	3,9
45)	1,9	3,8	3,9	3,9	3,8
46)	2,0	3,9	3,8	3,8	3,9
47)	2,0	4,0	3,9	3,8	3,9
48)	1,9	4,1	4,0	4,1	4,0
49)	1,9	4,0	4,0	4,0	4,1
50)	2,0	3,8	3,8	3,8	3,8
<u>Arithmetischer Mittelwert:</u>					
	1,97	3,94	3,94	3,94	3,93
Ödemzunahme bezogen auf					
Ausgangsvolumen		100%	100%	100%	99%

Die für die einzelnen Versuchsgruppen ermittelten Durchschnittswerte der prozentualen Zunahme des Pfotenvolumens, bezogen auf das Ausgangsvolumen sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt:

Ödemzunahme der Versuchsgruppen I mit V.

Versuchsgruppen	Ca-Salz	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.
I	Kontrolle	103,5%	106,1%	108,6%	109,1%
II	CaCl ₂	52,5%	44,5%	41,1%	37,1%
III	Ca-acetylglutamat	63,0%	61,0%	58,0%	53,3%
IV	Ca-glukonat	79,4%	82,4%	78,4%	77,4%
V	Ca Na ₂ Y	100,0%	100,0%	100,0%	99,0%

Aus dem Vergleich der Versuchsgruppen I mit V geht hervor, daß Ca-acetylglutamat hinsichtlich seiner entzündungshemmenden Wirkung zwischen Ca Cl₂ und Calciumglukonat eingeordnet werden muß.

3.) Einfluß von acetylglutaminsaurem Calcium auf die Gerinnung von Oxalatblutplasma.

Durch Zusatz dissoziierbarer Calciumsalze zu ungerinnbarem Oxalatblutplasma wird wieder Gerinnung ausgelöst. Acetylglutaminsaures Calcium wurde hinsichtlich seiner gerinnungsfördernden Wirkung mit CaCl₂ und Calciumglukonat verglichen.

Als ein besonders geeignetes Verfahren zum Studium der Calciumwirkung erwies sich die Blutgerinnungszeitmethode nach D y c k e r h o f f (7).

Methodik:

Zu 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung werden 5 ccm einer 2%igen Ammoniumoxalatlösung hinzugefügt. 7 ccm dieser Lösung werden in eine gradierte 10 ccm Injektionsspritze aufgesogen, die man dann durch Venenpunktion mit 3 ccm Rinderblut auffüllt. Man zentrifugiert nun 10 Minu-

ten bei etwa 3000 Touren, gießt über den Formelementen ab und zentrifugiert das nun vorliegende Blutplasma nochmals 15 Minuten. Zur Bestimmung der Gerinnungszeit gibt man stets 2 ccm Plasma in ein kleines Reagenzglas und wärmt im Thermostaten bei 37 Grad 5 Minuten vor. Dann fügt man 0,2 ccm einer Calciumchloridlösung, die 3,5 mg Calcium-Ionen im Kubikzentimeter enthält, zu und bestimmt die Zeit bis zur Gerinnung. Das Reagenzglas beläßt man im Thermostaten. Wenn man das Reagenzglas von Zeit zu Zeit schüttelt, erkennt man den Gerinnungseintritt leicht an der Fibrinbildung. Die durch Calciumoxalat gleichmäßig getrübe Versuchslösung wird beim Gerinnungspunkt klar, weil das Fibrin das Calciumoxalat mitreißt.

Ergebnisse.

Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengefaßt:

Einfluß verschiedener CalciumSalze auf die Gerinnung von Oxalatblutplasma.

Ca-Salz	mg Ca/ccm	Durchschn.Eintritt der Gerinnungszeit in Minuten	Schwankungs- breite
CaCl ₂	3,5	3,30	+ 15 Sek.
Ca-acetylglutamat	3,5	3,40	+ 16 Sek.
Ca-glukonat	3,5	4,00	+ 15 Sek.
CaNa ₂ Y	3,6	Keine Gerinnung	-----
CaNa ₂ Y	7,2	Keine Gerinnung	-----
CaNa ₂ Y	14,4	Keine Gerinnung	-----

Aus den Versuchen ergibt sich, daß die Gerinnungszeit von Oxalatblutplasma nach Zugabe von Ca-acetylglutamat länger als die durch Calciumchlorid bewirkte und kürzer als nach Zugabe von Calciumglukonat ist, d.h., der Calciumeffekt von Ca-acetylglutamat ist besser als der von Calciumglukonat und wenig schlechter als jener von Calciumchlorid.

4.) Wirkung von acetylglutaminsaurem Calcium am isolierten Froschherzen.

Die Funktionstüchtigkeit des isolierten Froschherzens ist, wie oben dargelegt, an die Anwesenheit von Calcium-Ionen gebunden. Wird sie durch Zugabe von acetylglutaminsaurem Calcium zu einer calciumfreien Ringerlösung aufrecht erhalten, so ist die Dissoziierbarkeit von Calciumacetylglutamat erwiesen.

Methodik.

Die nachstehenden Untersuchungen wurden an den Herzen zahlreicher weiblicher und männlicher Eskulenten nach der Straubschen Methode (41) durchgeführt. Die als Nährlösung verwendete Ringerlösung, bei der die Herzfunktion voll erhalten blieb, setzte sich wie folgt zusammen:

NaCl	9,5 g
NaHCO ₃	0,1 g
KCl	0,2 g
CaCl ₂	0,23 g
Glukose	0,1 g
Aq.dest. ad	1000,0 g

Der Calciumchlorid-Gehalt dieser Lösung wurde variiert und schließlich durch abgestufte Mengen von acetylglutaminsaurem Calcium ersetzt. Mit dem Calcium-Ionengehalt der Nährlösung änderte sich auch die auf einem Kymographion registrierte Amplitude der Herzkontraktionen (jedoch nicht deren Frequenz). Auf diese Weise war durch Vergleich der Amplitudengröße eine Beurteilung des Calciumeffektes beider Salze möglich.

Ergebnisse:

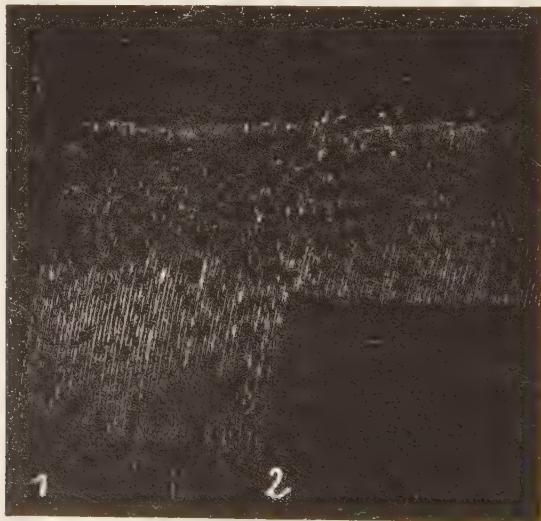
Die Amplitudenhöhe des isolierten Froschherzens war in der unveränderten Ringerlösung am größten und wurde durch niedrigere oder höhere Calciumchloridmengen niemals erhöht, sondern immer nur erniedrigt.

Die halbe Menge von Calciumchlorid (0,116 g) in der Ringerlösung bewirkte Halbierung der Amplitudenhöhe des Herzschlages, die Frequenz blieb gleich.

Bei Fehlen von Calciumchlorid in der Ringerlösung trat sofortiger diastolischer Herzstillstand ein. Nach Zugabe von calciumhaltiger Ringerlösung setzten die Kontraktionen wieder ein und erreichten bald die alte Amplitudenhöhe.

Bei Austausch von Calciumchlorid gegen eine äquimolare Menge von acetylglutaminsaurem Calcium (0,471 g) zeigte sich in fast allen Versuchen, daß die Amplitudenhöhe die Hälfte der Höhe bei Verwendung von Ringerlösung mit CaCl_2 (0,232 g) erreichte. Die halbe Menge von Calciumchlorid (0,116 g) in der Ringerlösung entsprach in allen Versuchen der Höhe von 0,471 g acetylglutaminsaurem Calcium. Die Frequenz änderte sich dabei nicht. (Abb. 1)

Abb. 1: Gegenüberstellung von Calcium-Ringer-(1) und Calciumacetylglutamat-Ringerlösung (2)

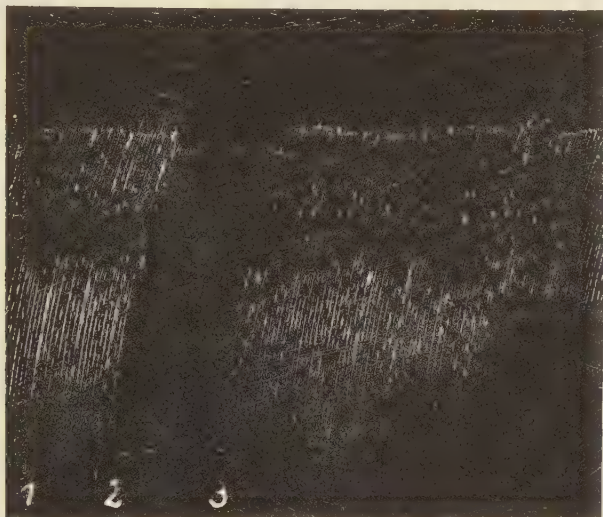


Die doppelte Menge von acetylglutaminsaurem Calcium (0,942 g) in der Nährlösung ließ die Amplitudenhöhe in allen Versuchen auf gleiche Höhe wie 0,232 g Calciumchlorid kommen.

Wurde dem Herzen calciumfreie Ringerlösung zugeführt, so trat sofortiger diastolischer Herzstillstand ein. Eine doppelte Menge von acetylglutamin-

saurem Calcium (0,942 g) bewirkte die baldige Erholung der Herztätigkeit. Die Amplitudenhöhe wurde wieder erreicht und blieb konstant (Abb. 2).

Abb. 2:



1: Ringerlösung mit CaCl_2

2: calciumfreie Ringerlösung

3: Ringerlösung mit zweifacher Menge von Calciumacetylglutamat.

In normaler Ringerlösung und calciumfreier Ringerlösung mit 0,942 g acetylglutaminsaurem Calcium waren Froschherzen fast einen Tag lang in normaler Tätigkeit zu halten.

5.) Beeinflussung der Magnesium-Narkose durch acetylglutaminsaures Calcium.

Kaninchen wurden durch parenterale Zufuhr einer Magnesiumsalzlösung in einen narkoseartigen Zustand versetzt. Durch Calciumionen kann diese Narkose unterbrochen werden.

Ein Vergleich der Weckwirkung von Ca-acetylglutamat mit derjenigen von Calciumchlorid und Calciumglukonat läßt Rückschlüsse auf die Dissoziationsfähigkeit der betreffenden Salze zu.

Methodik.

Die Versuche wurden an weiblichen und männlichen Kaninchen durchgeführt. Für die nachstehende Untersuchung bekamen die Kaninchen 10 ccm einer 12,5%igen $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ - Lösung pro kg Körpergewicht, die in allen Fällen eine tiefe Narkose bewirkte, subcutan verabreicht. Nach ungefähr 30 Minuten trat Muskeler schlaffung und Schwinden des Lidreflexes ein. Die Tiere wurden entsprechend ihrer Behandlung mit Lösungen äquimolarer Konzentrationen der zu vergleichenden Calciumverbindungen in drei Gruppen eingeteilt:

1. Gruppe A Weckversuch mit 5%iger Calciumchloridlösung
(1 ccm = 18 mg Ca)
2. Gruppe B Weckversuch mit 11%iger Lösung von Calciumacetylglutamat
(1 ccm = 18 mg Ca)
3. Gruppe C Weckversuch mit 20%iger Lösung von Calciumglukonat
(1 ccm = 18 mg Ca).

Ergebnisse:

Gruppe A - Calciumchlorid

Spätestens 45 Minuten nach der Injektion von $MgSO_4$ wurde 5%ige Calciumchloridlösung intravenös gegeben, und zwar gerade soviel, daß die Tiere erwachten. Bei den Untersuchungen waren, wie aus Tabelle 1 hervorgeht, durchschnittlich 15,34 mg Calcium pro kg Körpergewicht erforderlich, um Aufrichten aus der Seitenlage zu bewirken.

Tab. 1: Ergebnisse der Versuchsgruppe A - Calciumchlorid

Tier Nr.	Gewicht in gr	12,5% $MgSO_4$ Lösung(ccm)	Eintr.der Narkose post injek- tionem	5% $CaCl_2$ in ccm	Gesamt-Ca-Bedarf in mg/kg Kan.
1	2400	24,00	30 Min.	2,0	15,0
2	2500	25,00	35 Min.	2,2	15,8
3	2400	24,00	35 Min.	2,1	15,2
4	2400	24,00	30 Min.	2,0	15,0
5	2300	23,00	30 Min.	1,9	15,7

Gruppe B - Calciumacetylglutamat

In dieser Versuchsreihe wurde den Kaninchen eine 11%ige Lösung von Calciumacetylglutamat verabreicht. Dabei zeigte sich, daß im Durchschnitt 22,36 mg Calcium pro kg Körpergewicht benötigt wurden, um denselben Weckeffekt zu erzielen wie bei der Calciumchlorid-Applikation. Die Kaninchen richteten sich kurz nach der Injektion auf und fielen nach 10-15 Minuten wieder in Narkose.

Tab. 2: Ergebnisse der Versuchsgruppe B - Calciumacetylglutamat

Tier Nr.	Gewicht in gr	12,5% MgSO ₄ Lösung(ccm)	Eintr.der Narkose post in- jectionem	11% Ca- acetyl- glutamat in ccm	Gesamt-Ca- Bedarf in mg/kg Kan.
6	2500	25,00	30 Min.	3,10	22,32
7	2500	25,00	40 Min.	3,10	22,32
8	2300	23,00	35 Min.	3,00	23,40
9	2500	25,00	50 Min.	3,10	22,32
10	2500	25,00	30 Min.	3,00	21,46

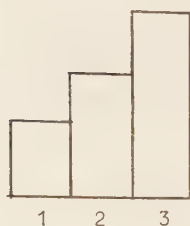
Gruppe C - Calciumglukonat

In der dritten Versuchsreihe wurde den Kaninchen eine 20%ige CalciumglukonatLösung als Weckmittel verabreicht. Wie Tabelle 3 zeigt, trat die Calcium-Wirkung erst bei durchschnittlich 37,64 mg Calcium pro kg Körpergewicht ein. Die Weckwirkung dauerte nicht so lange. Nach 8 Minuten fielen die Kaninchen ausser Nr. 14 wieder in den Narkosezustand.

Tab. 3: Ergebnisse der Versuchsgruppe C - Calciumglukonat

Tier Nr.	Gewicht in gr	12,5% MgSO ₄ Lösung(ccm) ⁴	Eintr.der Narkose post-in- jectionem	20% Ca- glukonat in ccm	Gesamt-Ca- Bedarf in mg/kg Kan.
11	2500	25,00	30 Min.	5,2	37,44
12	2400	24,00	40 Min.	5,0	37,50
13	2300	23,00	30 Min.	4,9	38,34
14	2400	24,00	50 Min.	5,0	37,50
15	2500	25,00	35 Min.	5,2	37,44

Nachfolgendes Säulendiagramm veranschaulicht die zur Erzielung einer Weckwirkung erforderlich gewesene Gesamt-Calciummenge der genannten Calciumverbindungen pro kg Kaninchen.



1.) CaCl₂ ca 15,3 mg Gesamt-Ca

2.) Ca-acetylglut-ca 22,3 mg " "

3.) Ca-glukonat ca 37,6 mg " "

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß die zur Erzielung derselben Weckwirkung erforderlichen Calciummengen verschieden groß sind, und den verschieden grossen Dissoziationsvermögen entsprechen. Calciumacetylglutamat steht hinsichtlich seiner Wirksamkeit als Calcium-Präparat auch bei diesem Versuch zwischen Calciumchlorid und Calciumglukonat.

6.) Wirkung von Calciumacetylglutamat auf den Blutdruck der Katze.

Da Glutaminsäure wegen ihrer adrenergischen Wirkungskomponente als blutdrucksteigernd bekannt ist, (N o r d 27) wurde vermutet, daß auch

Acetylglutaminsäure in diesem Sinne wirkt. Es wurde deshalb der Einfluß von Calciumacetylglutamat auf den Blutdruck der Katze untersucht.

Methodik.

Die Blutdruckversuche wurden an weiblichen und männlichen Katzen durchgeführt. Für Narkose wurden 0,5 g Urethan + 0,04 g Chloralose intraperitoneal pro kg Körpergewicht verwendet. Als äquimolare Calciumkonzentrationen zu 11%igem Calciumacetylglutamat (1 ccm = 18 mg Ca) wurde eine 5%ige Lösung von CaCl_2 (1 ccm = 18 mg Ca) und eine 20%ige Lösung von Calciumglukonat (1 ccm = 18 mg Ca) verwendet. Mit diesen Salzkonzentrationen traten erkennbare Blutdruckveränderungen auf.

Ergebnisse.

Nach anfänglicher geringer Blutdrucksenkung zeigten 1 ccm einer 5%igen Calciumchloridlösung und 1 ccm einer 20%igen Calciumglukonatlösung intravenös gegeben etwa gleiche Blutdrucksteigerung. Bei 1 ccm einer 11%igen Lösung von acetylglutaminsaurem Calcium war nach vorausgegangener tieferer, jedoch kurzer Blutdrucksenkung die blutdrucksteigernde Wirkung höher und länger anhaltend als bei Chlorid und Glukonat, wie aus Abb. 3 (S. 26) hervorgeht.

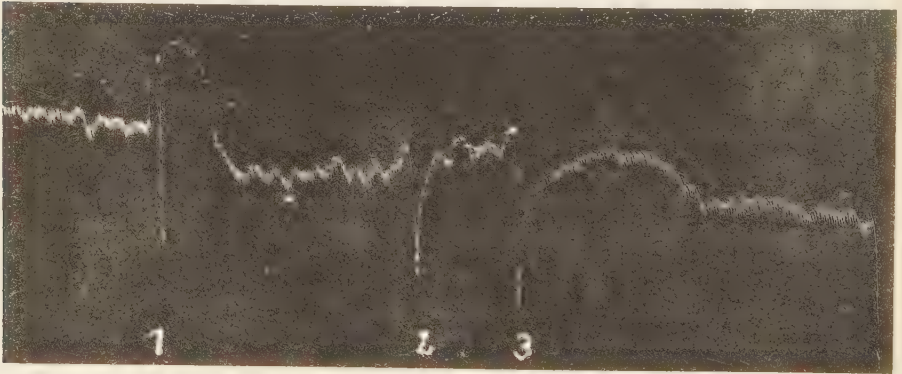
Abb. 3:



Blutdruckveränderung durch CaCl_2 (1), Ca-acetylglutamat (2) und Ca-glukonat (3).

Yohimbin, das adrenolytisch wirkt, vermag die blutdrucksteigernde Wirkung von acetylglutaminsaurem Calcium aufzuheben, wie aus Abb. 4 ersichtlich ist:

Abb. 4:



Einfluß von Yohimbin auf die Blutdrucksteigerung nach intravenöser Applikation von Ca-acetylglutamat.

- 1: Ca-acetylglutamat
- 2: Yohimbin
- 3: Ca-acetylglutamat

IV. Erörterung der experimentellen Ergebnisse.

Für die pharmakologische Beurteilung eines Calciumpräparates ist seine Wirksamkeit und Gewebefreundlichkeit von Bedeutung. Zwei Extreme in dieser Hinsicht stellen Calciumchlorid und -glukonat dar: Calciumchlorid ist hochwirksam und gewebeunfreundlich, Calciumglukonat örtlich gut verträglich mit weit geringerem Calciumeffekt. Ein Vergleich mit diesen beiden Stoffen kann deshalb ein Maßstab für die therapeutische Brauchbarkeit eines Calciumpräparates sein.

Acetylglutaminsaures Calcium verursacht eine nur geringgradige, vorübergehende Gewebsaffektion, wie sich aus den Versuchen am Kaninchenohr und der Rückenhaut des Kaninchens ergibt. Nachhaltige Schädigungen stellen sich nicht ein, während äquimolare Mengen von Calciumchlorid tiefgreifende Gewebsnekrosen verursachen. Bezüglich der Allgemeinverträglichkeit von acetylglutaminsaurem Calcium ergibt keiner der durchgeführten Versuche ein negatives Moment.

Die antiphlogistische Eigenschaft von acetylglutaminsaurem Calcium wurde an seiner Wirkung auf das Hühnereiweißödem der Rattenpfote geprüft. Dabei erwies sich dieses hinsichtlich Stärke und Verlauf der antiphlogistischen Wirkung dem Calciumglukonat überlegen. Calciumchlorid wirkte hingegen stärker als Calciumacetylglutamat. Die anhaltende hemmende Wirkung auf die Entwicklung des Ödems war allen drei genannten Calciumverbindungen gemeinsam. Mit CaNa_2Y wurde jedoch keine Hemmung des Ödems beobachtet.

Die Blutgerinnungszeit wird durch Calciumacetylglutamat stärker verkürzt als durch Calciumglukonat. Noch kürzer war sie bei Calciumchlorid.

Aus der Wirksamkeit auf das isolierte Froschherz läßt sich erkennen, daß die Dissoziation von Calciumacetylglutamat in der verwendeten Ringerlösung etwa 50% der Dissoziation von Calciumchlorid entspricht, da zum Erreichen desselben Effektes jeweils die doppelte molare Menge des Acetylglutamats erforderlich war. Eine durch Fehlen von Calcium-Ionen bedingte Herzinsuffizienz war mit Calciumacetylglutamat zu beheben.

Entgegen diesem Befund in vitro zeigte die Acetylglutaminverbindung in vivo bei Prüfung ihrer Wirksamkeit auf die Magnesiumnarkose eine stärkere Dissoziierbarkeit, denn hier verhalten sich äquivalente Molmengen von Calciumchlorid und Calciumacetylglutamat nicht mehr wie 1:2, sondern wie 15:22 d.h. Calciumacetylglutamat war verhältnismässig stärker dissoziiert. Im

Vergleich zu Calciumglukonat ist Ca-acetylglutamat bedeutend wirksamer.

Die durch Calciumacetylglutamat bewirkte stärkere Blutdrucksteigerung im Vergleich zu äquimolaren Calciumchlorid- bzw. Calciumglukonatsdosen kann vielleicht wie folgt erklärt werden: N o r d (27) wies in seinen Untersuchungen über die Glutaminsäure eine adrenergische Wirkung derselben nach. Es ist naheliegend, daß auch deren Acetylverbindung im gleichen Sinne wirkt. Ausserdem war die durch Calciumacetylglutamat bewirkte Blutdrucksteigerung mit Yohimbin - einem als adrenolytisch bekannten Stoff - zu unterdrücken. Damit muß wohl die durch acetylglutaminsaures Calcium verursachte Blutdrucksteigerung, wenigstens soweit sie die von Calciumchlorid und Calciumglukonat übertrifft, dem Anion zugeschrieben werden.

Abschliessend kann gesagt werden, daß Calciumacetylglutamat hinsichtlich seiner Calciumwirkung zwischen Calciumchlorid und Calciumglukonat einzuordnen ist. Seine Gewebefreundlichkeit ist bedeutend besser als jene von Calciumchlorid. Calciumacetylglutamat kann nach den vorliegenden Ergebnissen neben der intravenösen Injektion ohne weiteres auch subcutan appliziert werden. Da acetylglutaminsaures Calcium ausserdem sich mit neutraler Reaktion leicht in Wasser löst und seine Säurekomponente im intermediären Stoffwechsel verschwindet, vereinigt es in sich alle wesentlichen Eigenschaften, welche für ein therapeutisch wertvolles Calciumpräparat wünschenswert sind. Alle diese Vorzüge lassen Calciumacetylglutamat, wie die klinischen Erfahrungen bereits zeigten (45), als geeignet für die rationelle Calciumtherapie erscheinen. Seine Anwendung kann auch dem Tierarzt empfohlen werden.

V. Zusammenfassung.

Acetylglutaminsaures Calcium (Solcalcium(R)) wurde auf seine lokale Verträglichkeit, seine antiphlogistische Wirkung, die Beeinflussung der Blutgerinnung, den Calcium-Effekt am isolierten Froschherz, seine Weckwirkung bei der Magnesiumnarkose des Kaninchens und seine Blutdruckwirkung mit folgenden Ergebnissen geprüft:

1. Bei lokaler parenteraler Applikation tritt nur eine vorübergehende geringe Gewebsreizung auf. Nachhaltige Schädigungen stellen sich nicht ein.
2. Als Antiphlogisticum ist Calciumacetylglutamat hinsichtlich Stärke und Verlauf der Wirkung dem Calciumglukonat fast um das Doppelte überlegen, während Calciumchlorid wirksamer war.
3. Acetylglutaminsaures Calcium zeigt gegenüber Oxalatblutplasma annähernd den gleichen Gerinnungseffekt wie Calciumchlorid. Beide sind wirksamer als Calciumglukonat.
4. Am isolierten Froschherzen zeigt acetylglutaminsaures Calcium in allen Funktionen dieselbe Calciumionen-Wirkung wie Calciumchlorid. Mengemässig ist acetylglutaminsaures Calcium halb so stark wirksam wie Calciumchlorid.
5. Die Magnesiumnarkose des Kaninchens wird durch acetylglutaminsaures Calcium rasch aufgehoben. Hinsichtlich der zur Erzielung derselben Wirkung verbrauchten äquimolaren Mengen verhalten sich Calciumchlorid, Calciumacetylglutamat und Calciumglukonat wie etwa 15:22 ; 38. Calciumacetylglutamat wirkt demnach stärker als Calciumglukonat und schwächer als Calciumchlorid.
6. Acetylglutaminsaures Calcium wirkt stärker blutdrucksteigernd als Calciumchlorid und Calciumglukonat. Die pressorische Wirkung von acetylglutaminsaurem Calcium wird durch das sympathicolytisch wirkende Yohimbin aufgehoben und ist damit vorwiegend adrenergischer Natur.

Calciumacetylglutamat vereinigt demnach starken Calciumioneneffekt mit guter lokaler Verträglichkeit.

VI. Literaturverzeichnis.

1. A r t h u s, M. u. P a g é s, C.: Arch.f.Physiol. 2, 739 (1890)
2. B i c k h a r d t, R.: Z.klin.Med. 100, 411 (1924)
3. B i l l i g h e i m e r, E.: Z.klin.Wschr. 1, 256 (1922) u.
Klin.Wschr. 16, 724 (1929)
4. B i n e t: Z.f.biol.Chem.18, 257 (1924)
5. C h i a r i, R. u. J a n u s c h k e, H.: Arch.exper.Path.65, 120 (1911)
6. G l o e t t a, M.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 200, 43
(1943)
7. D y c k e r h o f f, H.: Biochem.Zschr. 284, 111 (1936)
8. F i s c h e r, A.: Biochem.Zschr.264, 169, 178 u. 184 (1933)
u. 270, 235, 250, 261 u. 275 (1934)
9. F r ö h n e r, E.: Lehrbuch der Arzneimittellehre für
Tierärzte 18. Aufl. 1950
Enke Verlag Stuttgart Seite 73
10. G o l d, H.: Arch.internat.Med.42, 576 (1928)
11. G o l l w i t z e r - M e i e r, K.: Biochem.Z. 151, 54 (1924)
12. H a m m a r s t e n, O. u. W ö h l i s c h, E.: Pflügers Arch. 22, 431
(1880)
13. H i l l e b r e c h t, J.: Arzneimittelforschg.4, 607, (1954)
14. H i l z, K.: Separatabdruck aus d.MTWschr. 66,
Nr.10 (1915)
15. H o c h r e i n, M.: Klin.Wschr.10, 1705 (1931)
16. H o w e l l, G.: Pflügers Arch. 22, 440 (1880)
17. K a s t l, O.: B.Z. 227, 452 (1934)
18. K ö p p e n, S.: Naunyn-Schmiedebergs Arch.154, 128
(1930)
19. L a n g e n d o r f f, O. u. H u e c k, W.: Pflügers Arch. 96, 473 (1903)
20. L e o, H.: Dtsch.med.Wschr. 37, 5 (1911)

21. M a n c k e, R.: Arch.exper.Path.149,67 (1930)
22. M a r k w a l d e r, R. u. M a n s f e l d : Naunyn-Schmiedebergs Arch.
154, 128 (1930)
23. M e l t z e r, S.J.u. A u e r : Amer. J. of Physiol.21, 400 (1908)
24. M e y e r, H.H.: Münch.med.Wschr. 57, 2277 (1910)
25. M ø l l e r, K.: Lehrb.der Pharmakol. 1953 S. 604
Benno Schwabe u.Co. Verl. Basel
26. M ø l l e r, K.: dasselbe Seite 606
27. N o r d : Acta Med.Scand.65, 1 (1926)
28. Q u i c k, A.J.: Science,N.Y.106,591 (1947)
29. R o t h b e r g e r, C.J. u. W i n t e r b e r g, H.: Arch.ges.Physiol.
142,461 (1911)
30. R o t h l i n, E.: Schweizer med.Wschr. 57, 388 (1927)
31. R o t h l i n, E. u. S c h a l c h, W.: Arch.internat.Pharmacodyn.47,
253 (1934)
32. S e l y e, H.: Endocrinology 21, 169 (1937)
33. S c h ö n, R. u. K ö p p e n, S.: Naunyn-Schmiedebergs Arch.154,115
(1930)
34. S c h r e t z e n m a y r, A.:Arch.exper.Path.116,630 (1931)
35. S t a r k e n s t e i n, E.: Arch.exper.Path.77, 45 (1914)
36. S t a n g l, E.: Ärztl.Monatsh.5,375 (1949/50)
37. S t a r k e n s t e i n, E.: Therapeut.Halbmonatschrift 18, 553 und
585 (1921)
38. S t r a u b, W. u. Mitarb.: Münchn.med.Wschr. 61,5 (1914)
39. T a i n t e r, M.L. u. D e v e n t e r, W.: J.amer. med. Assoc.94,546
(1930)
40. T h e r, L.: Pharmakol.Methoden S.154 Wissenschaftl.
Verlagsgesellschaft Stuttgart 1949
41. W e i t n a u e r, H. u. W ö h l i s c h, E.: Biochem.Z.288,137 (1936)
42. W r i g h t, A.E.: Lancet 74, 153 (1896)
43. Y a m a w a k i, T.: Arch.f.exper.Path.u.Pharmakol.136,1(1928)
- 44) DBP 816696
- 45) P o s s e l, H.: Die Medizinische Nr. 10: 357 (1956)

Herrn Professor Dr. K. Z i p f bin ich für die Über-
lassung der Fragestellung, den Herren Assistenten
Dr. A. S c h m i d und Apotheker W. S c h l e m m e r
für Rat und Unterstützung zu grossem Dank verpflichtet.

VII. Lebenslauf

Am 31. 1. 1933 wurde ich, Karl Muggenthaler, als Sohn des Oberforstverwalters Karl Muggenthaler und seiner Ehefrau Betty, geb. Frey, in Strahlfeld Kr. Roding geboren.

Nach Beendigung der 5. Volksschulklasse in Schwarzach bei Bogen besuchte ich ab September 1944 die 1. Klasse der Oberschule in Deggendorf. Bei Wiedereröffnung des humanistischen Gymnasiums in Metten trat ich am 10. Mai 1946 in die 2. Klasse ein und legte im Juni 1952 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1952/53 begann ich mit dem Studium der Veterinärmedizin an der Tierärztlichen Fakultät München und bestand dort im Juli 1957 das tierärztliche Staatsexamen.

